МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
ГУ РНПЦ эпидемиологии и микробиологии
Ул. Филимонова, 23, 220114 г. Минск
Тел. (017) 267-32-67, факс (017) 264-30-93,
e-mail: rrpcem@belriem, www. belriem.by

ИНСТРУКЦИЯ
по применению тест-системы иммуноферментной для выявления антител класса М к вирусу Тягиня

Настоящая инструкция распространяется на тест-систему иммуноферментную для выявления антител класса М к вирусу Тягиня в сыворотках крови людей, далее по тексту «тест-система».

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система предназначена для выявления антител класса М к вирусу Тягиня в сыворотке крови человека, использования в научных исследованиях. Набор рассчитан на проведение 96 исследований, включая контроли.

СОСТАВ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

- Планшет полистироловый из 12 разборных стрипов — 1 шт.
- Антиген вируса Тягиня — 1 фл.
- Иммунная асцитическая жидкость (ИАЖ), содержащая антитела к вирусу Тягиня (К+) — 1 фл.
- Асцитическая жидкость (АЖ), не содержащая антител к вирусу Тягиня (1 К-) — 1 фл.
- Сыворотка человека, не содержащая антител к вирусу Тягиня (2 К-) — 1 фл.
- Антивидовые антитела (IgM) против иммуноглобулинов белой мыши, меченые пероксидазой (коньюгат №1) — 1 фл.
- Антивидовые антитела (IgM) против иммуноглобулинов человека, меченые пероксидазой (коньюгат №2) — 1 фл.
- Фосфатно-солевой буфер (ФСБ) — 1 фл.
- Фосфатно-солевой твинсодержащий буферный раствор (ФСТБ) — 1 фл.
- Раствор для разведения образцов (РРО) — 2 фл.
- Бычий сывороточный альбумин (БСА) — 1 фл.
- Тетраметилбензидин (ТМБ) — 1 фл.
- Стоп-реагент — 1 фл.
- Инструкция по применению — 1 шт.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Диагностическая специфичность тест-системы – не менее 95 %;
Диагностическая чувствительность – не менее 98 %;

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

В соответствии с системой менеджмента предприятия-изготовителя каждая серия тест-системы должна быть проверена и принята отделом биологического контроля (ОБК) изготовителя на соответствие всем показателям ТУ ВУ 100558032.354-2019

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При работе с тест-системой следует применять меры предосторожности в соответствии с требованиями работы с вирусами III группы: проводить работу в халате, марлевых повязках и резиновых перчатках. Посуду и наконечники, контактирующие с раствором ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. ТМБ обладает определенным токсическим и канцерогенным действием – не допускать попадания в дыхательные пути, на кожу и слизистые. Стоп - реагент содержит серную кислоту - не допускать попадания на кожу и слизистые. В случае контакта – промыть большим количеством воды.

Другие компоненты тест-системы нетоксичны.

СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ

1. Подготовка исследуемых проб (сывороток крови). Кровь от обследуемых людей забирают в стеклянную или пластмассовую посуду в объеме не менее 0,5-1,0 мл. Выдерживают в термостате при $(37\pm1)^0$С 30 мин., затем центрифугируют при 1000-1500 об/мин, на центрифуге типа ОПН-8 в течение 15 мин. Сыворотку отбирают и хранят в течение 24 часов при температуре от 2 до 8°С или при температуре минус 20°С в течение 3 месяцев. Многократные замораживания-оттаивания сывороток нежелательны.

2. Иммобилизация антигена вируса Тягиня на поверхности лунок планшета. К содержимому флакона с АГ Тягиня добавить 0,9 мл ФСБ, перемешать пипетированием. Полученную суспензию развести 1:10 (1мл. суспензии+9 мл. ФСБ). Внести по 100 мкл в каждую лунку планшета. Планшет с заполненными лунками заклеить пленкой и оставить в таком виде на 18-20 ч при $(4\pm2)^0$С в холодильнике.

3. Приготовление рабочих растворов и реагентов.

3.1. *Приготовление рабочего раствора для отмывки планшета.* Концентрат ФСТБ развестит в 25 раз. Для этого внести в мерный цилиндр 24 мл. концентрата ФСТБ и довести объем до 600 мл. дистиллированной водой.

3.2. *Приготовление раствора ФСБ-БСА.* Содержимое флакона БСА развести в 20 мл ФСБ.

3.3. *Подготовка исследуемых сывороток.* Исследуемые образцы развести в РРО в соотношении 1:100 (к 0,99 мл РРО добавить 0,01 мл цельной сыворотки) и тщательно перемешать пипетированием.

3.4. *Подготовка конъюгата №1.* К содержимому флакона с коньюгатом №1 добавить 90 мкл. РРО, тщательно перемешать пипетированием. Развести 2 мкл. полученной суспензии в 6,4 мл. РРО.

3.5.. *Подготовка конъюгата №2.* К содержимому флакона с коньюгатом №2 добавить 90 мкл. РРО, тщательно перемешать пипетированием. Развести 2 мкл. полученной суспензии в 8 мл. РРО.

3.6. *Подготовка положительного контроля.* К содержимому флакона с ПК добавить 225 мкл. РРО, тщательно перемешать пипетированием. 100 мкл. полученной суспензии развести в 900 мкл. РРО.

3.7. *Подготовка отрицательного контроля №1 и №2.* Отрицательные контроли готовы к использованию и не требуют дополнительного разведения.

3.8. *Подготовка раствора тетраметилбензидина.* Раствор ТМБ готов к использованию. Необходимо исключить воздействие прямого солнечного света на раствор тетраметилбензидина.

4. Проведение ИФА.

4.1. *Отмывка.* Планшет, в лунках которого сорбирован антиген, промыть три раза при помощи аппарата для промывания планшетов, внося в лунки не менее 200 мкл раствора ФСТБ. По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4.2. *«Забивка» альбумином свободных активных центров.* В каждую лунку планшета внести по 200 мкл. приготовленного раствора ФСБ-БСА (этап 3.2.). Планшет заклеить пленкой и инкубировать 1 ч при (37±1)^{0}С. По окончании инкубации планшет отмыть 3 раза, как описано в п. 4.1.

4.3. *Внесение контролей и исследуемых образцов сывороток.*

а) Внесение контролей. Внести положительный (К+) и отрицательные (1К-,2К-) контроли по 100 мкл в лунки планшета: (1К-) – в 2 лунки; (2К-) – в 2 лунки; (К+) - в 2 лунки.

б) Внесение исследуемых сывороток. В оставшиеся лунки планшета внести исследуемые образцы сывороток в объеме 100 мкл.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 1 ч при (37±1)^{0}С. По окончании инкубации планшет отмыть 3 раза, как описано в п. 4.1.

5. Внесение конъюгатов. Внести по 100 мкл. раствора коньюгата №1 в лунки с (К+) и (1К-). В оставшиеся лунки планшета внести по 100 мкл. раствора коньюгата №2.

Планшет заклеить пленкой и инкубировать 1 ч при (37±1)^{0}С. По окончании инкубации планшет отмыть 3 раза, как описано в п. 4.1.

6. Внесение ТМБ. Внести в каждую лунку планшета по 100 мкл. раствора ТМБ.

Планшет закрыть крышкой или заклеить пленкой и поместить на 25 мин. в защищенное от света место при температуре 18-25 °С.

7. Внесение стоп-реагента. Внести во все лунки по 50 мкл. стоп-реагента.

8. Учет результатов.

Измерение оптической плотности проводят с помощью спектрофотометра в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр – 620 нм.

Результаты учитывают только в том случае, если значение среднего арифметического показателя оптической плотности (ОП) в лунках 1К- и в лунках 2К- не более 0,2, а в лунках с К+ среднее значение ОП не менее 0,4.

$ОП_{крит.}$ рассчитывают по формуле:

$ОП_{крит.} = ОП2К\text{-}_{(ср.)} + 0,2$,

где $ОП2К\text{-}_{(ср.)}$ – среднее значение ОП в лунках 2К-.

Результат анализа считать положительным, если значение оптической плотности исследуемого образца $ОП_{обр} \geq ОП_{крит.}$

Результат анализа считать отрицательным, если $ОП_{обр} \leq ОП_{крит.}$

ФОРМА ВЫПУСКА

Тест-система выпускается в комплекте, упакованном в коробку. Максимальное число исследований, включая контроли - 96.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ

Срок годности тест-системы 12 месяцев с даты изготовления.

Хранить при (2 – 8)°С, АГ Тягиня, ПК, ОК1, ОК2 , коньюгат1, коньюгат2 хранить при -20 °С.

Транспортирование производить при температуре от плюс 2 до плюс 8°С. Допускается транспортирование при температуре не выше плюс 25 °С не более 10 часов.

Рекламации на качество направлять на предприятие-изготовитель по адресу: 220114, Минск, ул. Филимонова, 23, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии.

ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

Изготовитель гарантирует соответствие тест-системы требованиям ТУ BY 100558032.355-2019 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru